

NITROGEN MONOXIDE PRODUCTION INHIBITOR

Patent number: JP10194978
Publication date: 1998-07-28
Inventor: ONO KOSAKU; KONISHI JINEMON; SUEHIRO MASAYUKI
Applicant: NIPPON ZOKI PHARMACEUTICAL CO
Classification:
- international: A61K35/12; A61K35/12; A61K9/08
- european:
Application number: JP19970013146 19970108
Priority number(s): JP19970013146 19970108

Also published as:

- EP0852950 (A1)
- US6051613 (A1)
- EP0852950 (B1)
- DE69816493T (T2)
- DE69816493D (T2)

[Report a data error here](#)**Abstract of JP10194978**

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide the pharmaceutical composition containing the extract of an inflammatory tissue inoculated with vaccinia viruses and useful as a nitrogen monoxide production inhibitor, a septicemia medicine, an anti-endotoxin agent, an endotoxin shock medicine, etc. **SOLUTION:** Endotoxins are produced in septicemia and serious bacteriuminfected diseases, and shock symptoms are caused by the actions of the endotoxins. The pharmaceutical composition having excellent inhibiting activities against toxicities induced by the endotoxins is thereby highly useful for treating and preventing the shock symptoms induced by the endotoxins, septicemia and various symptoms accompanied by the septicemia. Since having an activity to inhibit the abnormal production of nitrogen monoxide in the symptoms, the pharmaceutical composition is useful for treating and preventing diseases related to the excessive production of the nitrogen monoxide, such as acute hypotension.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-194978

(43)公開日 平成10年(1998)7月28日

(51) Int.Cl.⁸
A 61 K 35/12識別記号
ADZ
ADD
AED

9/08

F I
A 61 K 35/12ADZ
ADD
AED

9/08

F

審査請求 未請求 請求項の数 8 FD (全 5 頁)

(21)出願番号 特願平9-13146

(22)出願日 平成9年(1997)1月8日

(71)出願人 000231796
日本臓器製薬株式会社
大阪府大阪市中央区平野町2丁目1番2号

(72)発明者 大野 耕作
鳥取県米子市西福原3-10-34

(72)発明者 小西 甚右衛門
兵庫県加東郡社町木梨字川北山442番1
日本臓器製薬株式会社生物活性科学研究所
内

(72)発明者 末廣 賢之
兵庫県加東郡社町木梨字川北山442番1
日本臓器製薬株式会社生物活性科学研究所
内

(74)代理人 弁理士 村山 佐武郎

(54)【発明の名称】 一酸化窒素産生抑制剤

(57)【要約】 (修正有)

【解決手段】ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有する一酸化窒素産生抑制剤、敗血症治療剤、抗エンドトキシン剤、エンドトキシンショック治療剤等の新規な医薬組成物である。

【効果】敗血症やその他の重篤な細菌感染症ではエンドトキシン(細胞内毒素)が産生され、その作用によってショック症状が引き起こされる。従って、上記の如きエンドトキシン誘発毒性に対して優れた阻害作用を有する本物質は、エンドトキシンによって誘因されるショック症状、敗血症並びにそれに伴う諸症状の治療或いは予防に非常に有用である。また本物質は病態時における異常な一酸化窒素産生を阻害する作用を有するため、過剰な一酸化窒素産生が関与する疾患、例えば急性の低血圧症等に対する治療・予防剤としても有用なものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有する一酸化窒素産生抑制剤。

【請求項2】ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有する敗血症治療剤。

【請求項3】ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有する抗エンドトキシン剤。

【請求項4】ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有するエンドトキシンショック治療剤。

【請求項5】炎症組織が皮膚組織である請求項1乃至4のいずれか一項記載の薬剤。

【請求項6】炎症動物組織が哺乳動物の皮膚組織である請求項5記載の薬剤。

【請求項7】注射剤である請求項1乃至6のいずれか一項記載の薬剤。

【請求項8】経口剤である請求項1乃至6のいずれか一項記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の新規な薬理作用に関するものであり、具体的にはワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有する一酸化窒素産生抑制剤、敗血症治療剤、抗エンドトキシン剤、エンドトキシンショック治療剤等の医薬に関する。

【0002】

【従来の技術】ウイルス等の外界からの侵襲や内的な病態状態の進行に対して、過剰反応に対する抑制作用と機能低下に対する増強作用という二相性をもって生体はその恒常性を維持し、生体機能を調整し正常化するために種々の生体機能調整物質を産生することが知られている。例えばワクシニアウイルスを接種した炎症組織において産生される生体機能調整物質、該物質を病態組織から抽出する製造方法並びにそれらの薬理活性については種々報告されている（特公昭63-39572号公報、特公昭63-25600号公報、特公平3-43279号公報など）。

【0003】また実際の医薬品としてはワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出物製剤がある。この製剤は例えば医療薬日本医薬品集（1994年8月版、日本医薬情報センター編、薬業時報社発行）の1434頁に記載されているように、ワクシニアウイルスを接種した家兎の炎症皮膚組織から抽出分離した非蛋白性の活性物質を含有する薬剤であり、腰痛症、頸肩腕症候群、肩関節周囲炎、変形性関節症、症候性神経痛、皮膚疾患（湿疹、皮膚炎、じんま疹）に伴う搔痒、アレルギー性鼻炎、スモン後遺症状の冷感、痛み、異常知覚等に対する適応が認められており、皮下、筋注、静注用の注射剤並びに錠剤が医療用医薬品として製造承認を受けて市販されてい

る。

【0004】上述したとおりワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物については、鎮痛作用、鎮静作用、抗アレルギー作用、末梢循環改善作用など種々の薬理作用を有することが知られているが、一酸化窒素産生抑制作用、敗血症治療作用、抗エンドトキシン作用並びにエンドトキシンショック治療作用等の本発明に係る新規な薬理作用に関してはこれまで全く報告されていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】敗血症やその他の重篤な細菌感染症ではエンドトキシン（細胞内毒素）が産生され、その作用によってショック症状が引き起こされる。エンドトキシンは、発熱、白血球增多、補体やキニン系の活性化、播種性血管内凝固症候群（DIC）の誘発、骨髓抑制など多彩な生体への作用を持つ。エンドトキシンによるショック症状は、進行すると過度の血圧低下、心拍出量の低下、乏尿、意識障害などを誘因し生体は大変危険な状態に陥る。エンドトキシンショック時の急激な血圧低下は、エンドトキシンが血管内皮細胞に作用して異常産生される過剰な一酸化窒素によるものであることが示唆されており、例えばアルギニン誘導体などの一酸化窒素合成酵素阻害剤がエンドトキシンショック時の低血圧症治療剤として検討されている。

【0006】本発明者等は、ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の薬理活性に関して種々の試験研究を行った結果、該物質がエンドトキシンにより誘発される細胞致死や一酸化窒素の過剰産生に対する抑制作用、並びにエンドトキシン誘発低血圧症に対する改善作用などを有することを見い出し本発明を完成した。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明の目的は、ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有する一酸化窒素産生抑制剤、敗血症治療剤、抗エンドトキシン剤、エンドトキシンショック治療剤等の新規な医薬組成物を提供することにある。

【0008】

【発明の実施の形態】本発明医薬組成物の有効成分はワクシニアウイルス接種炎症組織から抽出した非蛋白性の生体機能調整物質であり、前記の医療薬日本医薬品集にも掲載されているワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出物製剤は医薬品の製造承認を受け市販されており入手可能である。また上述した特許公報等の文献に記載されている種々のワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物が本発明物質として利用でき、それらの製造方法や好ましい投与量なども文献中に説明されている。

【0009】患者に対する投与方法は、注射剤による皮下、筋注、静注投与並びに錠剤による経口投与が市販薬剤では認められているが、その他疾患の種類に応じて、その治療に最適な上記以外の剤形による投与方法も可能である。投与量はワクシニアウイルス接種炎症組織抽出

物の種類によって適宜設定すべきであるが、市販製剤で認められている投与量は、前記の医療薬日本医薬品集(1434頁)によれば、基本的には内服では1日16ノイロトロビン単位、注射剤では1日3.6乃至7.2ノイロトロビン単位を投与するよう医療用医薬品としては示されているが、疾患の種類、重症度、患者の個人差、投与方法、投与期間等によって適宜増減可能である。

【0010】以下に、ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の新規な薬理作用に関する薬理試験結果を示す。

(1) 細胞保護作用

3.5cm培養皿あたり 2×10^4 個を移植したヒト臍帯血管内皮細胞に、エンドトキシン(リポポリサッカライド:LPS)を種々の濃度にて添加し、上記内皮細胞を培養した。7日間後、血球計算盤で細胞数をカウントし、トリパンブルー染色法によって細胞の生死を測定した。この試験系に本発明物質を共存させ、LPSによる内皮細胞の致死に対する本発明物質の効果を調べた結果の一例を図1に示す。

【0011】図1に示したように、LPSは $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ を越える濃度において濃度依存的に内皮細胞に障害を与え、細胞を死滅させた。このLPS誘発細胞致死に対して、特公昭63-39572号公報の実施例1記載の製造方法に従って得た本発明物質は優れた細胞保護作用を有し、細胞の生存率を著明に改善させた。

【0012】(2) 一酸化窒素産生阻害作用

ヒト臍帯血管内皮細胞(2×10^4 個/穴)を96穴マルチウェルプレートにて200mlの培地で細胞がコンフルエンスになるまで培養した。培地を除きLPS($0.001\sim 100\text{mg}/\text{ml}$)および上記本発明物質を含む新鮮な培地を添加し、24時間後にGries試薬を用いた発色分析法によって一酸化窒素の産生量を測定した。即ち、各培養穴より100mlを分取し、100mlのGries試薬(1%スルファニルアミド及び0.1%N-1-ナフチルエチレンジアミンジヒドロクロライドの2%リン酸溶液)を加え、25°Cで10分間インキュベートした後、540nmの吸光度を測定した。亜硝酸ナトリウム水溶液を標準溶液とし、本発明物質の一酸化窒素産生阻害作用を調べた結果の一例を図2に示す。

【0013】上述したLPS誘発細胞障害に対する本発明物質の細胞保護作用の作用機序の一つとしてLPSによる一酸化窒素産生に対する阻害作用を調べた。図2に示したとおり、LPS濃度が $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上において一酸化窒素産生は顕著に増加し、本発明物質はこのLPS誘発の一酸化窒素産生に対して明らかに阻害作用を示した。また、LPS処置マウスの肺、肝臓及び腎臓におけるNADPH-diaphorase陽性物質及び誘導型一酸化窒素合成酵素の増加に対して、本発明物質(LPS投与と同時に投与)はそれらの増加に対して

抑制作用を示した。従って、本発明物質の一酸化窒素産生阻害作用は誘導型一酸化窒素合成酵素の発現に対する阻害に基づくことが示唆された。

【0014】(3) LPS誘発致死抑制作用

雄性ddy系マウス(25~30g)と共に本発明物質溶液又はリン酸緩衝化生理食塩液を腹腔内投与した。この投与より12時間毎5日間にわたって本発明物質溶液(40単位/kg)又はリン酸緩衝化生理食塩液(コントロール)の投与を行い、死亡数を1日2回測定した。結果の一例を図3に示す。

【0015】図3に示したように、LPSを投与したマウスの生存率は経時的に減少してゆくが、本発明物質(ワクシニアウイルス接種炎症皮膚抽出物製剤:商品名ノイロトロビン)を投与した群では有意にLPS誘発致死に対する抑制作用が観察された。このように図1に示した培養内皮細胞系の試験と同様に、動物実験によっても本発明物質のLPS誘発致死抑制作用が確認された。

【0016】(4) LPS誘発低血圧症改善作用

雄性フィッシャー系ラット(230~250g)にペントバルビタール(40mg/kg)を腹腔内投与して麻酔し、血圧及び心拍数の測定並びに本発明物質投与のためカテーテルを動脈内に挿入した。血圧及び心拍数が安定した後、本発明物質(60mg/kg)又は生理食塩液(コントロール)を静脈内投与した。30分後にLPS(15mg/kg)を投与し、血圧を10分毎3時間にわたって測定した。

【0017】LPSに暴露されたラットの平均動脈血圧は、LPS投与後40分頃から低下し、1時間半乃至2時間半には約20%低下する。これに対してワクシニアウイルス接種炎症皮膚抽出物製剤を投与した群では、血圧低下は起こらず、5%程度のわずかな血圧上昇が観察された。

【0018】

【発明の効果】上記の薬理試験結果より明かなように、エンドトキシン(リポポリサッカライド:LPS)による細胞や動物の致死誘発に対して、本発明医薬組成物の有効成分であるワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物は優れた防御作用を有し、またエンドトキシン誘発の過剰な一酸化窒素産生に対しても明らかな阻害作用を示した。エンドトキシンショック時の急激な血圧低下は、エンドトキシンによって誘発される血管内皮細胞の過剰な一酸化窒素産生によるものであることが示唆されており、上記LPS誘発低血圧症の薬理試験において、一酸化窒素産生阻害作用を有する本発明物質はLPS投与後の血圧低下に対して正常血圧を維持する好ましい作用が認められた。上述の薬理試験(エンドトキシン誘発致死抑制作用、一酸化窒素産生阻害作用、LPS誘発低血圧症改善作用)においては試験結果の一例を例示しているが、市販のワクシニアウイルス接種炎症皮膚抽出物製剤

の他、特公昭63-39572号公報の実施例記載の抽出物、特公昭63-25600号公報の実施例記載の抽出物、特公平3-43279号公報の実施例記載の抽出物などその他各種のワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物においてこれらの作用が同様に認められた。

【0019】敗血症やその他の重篤な細菌感染症ではエンドトキシン（細胞内毒素）が產生され、その作用によってショック症状が引き起こされる。従って、上記の如きエンドトキシン誘発毒性に対して優れた阻害作用を有する本発明物質は、エンドトキシンによって誘因されるショック症状、敗血症並びにそれに伴う諸症状の治療或いは予防に非常に有用である。また本発明物質は病態時における異常な一酸化窒素産生を阻害する作用を有するため、過剰な一酸化窒素産生が関与する疾患、例えば急性の低血圧症等に対する治療・予防剤としても有用なものである。

【0020】

【実施例】本発明医薬組成物の有効成分であるワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物は、適当な医薬用の担体若しくは希釈剤と組み合わせて医薬とすることができ、通常の如何なる方法によっても製剤化でき、経口又は非経口投与するための固体、半固体、液体又は気体の剤形に処方することができる。処方にあたっては、本発明物質を単独で若しくは適宜組み合わせて用いることができ、又、他の医薬活性成分との配合剤としてもよい。

【0021】注射剤としては水性溶剤又は非水性溶剤、

例えば注射用蒸溜水、生理食塩水、リンゲル液、植物油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸エステル、プロピレングリコール等の溶液若しくは懸濁液として製剤化することができる。

【0022】経口投与剤としては、そのまま又は適宜乾燥し或いは適当な添加剤、例えば乳糖、マンニット、トウモロコシデンプン、パレイショデンプン等の慣用の賦形剤と共に、結晶セルロース、セルロース誘導体、アラビアゴム、トウモロコシデンプン、ゼラチン等の結合剤、トウモロコシデンプン、パレイショデンプン、カルボキシメチルセルロースカリウム等の崩壊剤、タルク、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、その他の增量剤、潤滑剤、緩衝剤、保存剤、香料等を適宜組み合わせて錠剤、散剤、顆粒剤或いはカプセル剤とすることができます。又、疾患の種類に応じて、その治療に最適な上記以外の剤形、例えば、坐剤、吸入剤、エアゾール剤、点眼剤、軟膏、パップ剤等に製剤化することも可能である。

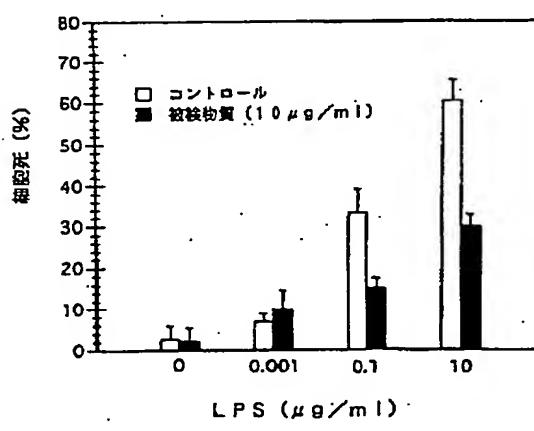
【図面の簡単な説明】

【図1】LPSによる内皮細胞の致死に対する本発明物質の抑制効果を示した図である。

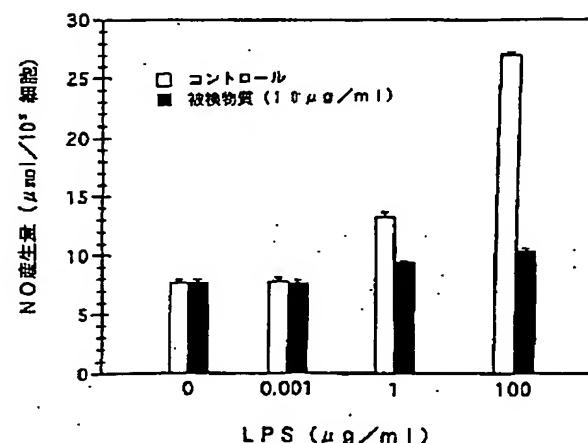
【図2】本発明物質のLPSによる過剰な一酸化窒素産生に対する阻害作用を示した図である。

【図3】LPS投与によるマウス致死に対する本発明物質の抑制作用を示した図である。

【図1】



【図2】



【図3】

